

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PAT-NO: JP406205666A
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 06205666 A
TITLE: METHOD FOR MULTIPLYING VA
MYCORRHIZAL FUNGUS
PUBN-DATE: July 26, 1994

INVENTOR- INFORMATION:
NAME
MIYAMOTO, JIN
SAKAI, MASAKAZU

ASSIGNEE- INFORMATION:
NAME IDEMITSU KOSAN CO LTD COUNTRY N/A

APPL-NO: JP05016837
APPL-DATE: January 8, 1993

INT-CL (IPC): C12N001/14, A01G007/00

ABSTRACT:

PURPOSE: To inexpensively obtain a VA mycorrhizal fungus useful for preparation of VA mycorrhizal fungus having high spore density and excellent activity by making a VA mycorrhizal fungus symbiosing in a root of a plant, applying a compound having cytokinin action, culturing the plant infected with the VA mycorrhizal fungus.

CONSTITUTION: Red granular soil sterilized with methyl bromide is packed into a flowerpot, 80 spores of VA mycorrhizal fungus [e.g. Gigaspora margarita (trust is rejected by Fermentation Research Institute) are ||

inoculated into the
soil, seeds of a plant such as dent corn are sowed, the red //
granular soil is
packed on the seeds and the plant is cultured in a
greenhouse at 25-30°C. A
VA mycorrhizal fungus is made to symbiose in the root of
the plant, a compound
(e.g. transzeatin) having action as cytokinin is applied to
the plant infected
with the VA mycorrhizal fungus and the plant infected with
the VA mycorrhizal
fungus is culture to inexpensively multiply the objective
VA mycorrhizal fungus
useful for preparation of the VA mycorrhizal fungus having
high spore density
and excellent activity.

COPYRIGHT: (C)1994, JPO&Japio

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-205666

(43)公開日 平成6年(1994)7月26日

(51)Int.Cl.⁵

識別記号

府内整理番号

F I

技術表示箇所

C 12 N 1/14

B 7236-4B

A 01 G 7/00

K 9318-2B

// (C 12 N 1/14

C 12 R 1:645)

審査請求 未請求 請求項の数3 FD (全6頁)

(21)出願番号

特願平5-16837

(71)出願人 000183646

出光興産株式会社

東京都千代田区丸の内3丁目1番1号

(22)出願日 平成5年(1993)1月8日

(72)発明者 宮本 人

千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地 出光興産株式会社内

(72)発明者 坂井 昌和

千葉県袖ヶ浦市上泉1280番地 出光興産株式会社内

(74)代理人 弁理士 久保田 藤郎 (外1名)

(54)【発明の名称】 VA菌根菌の増殖方法

(57)【要約】

【構成】 植物根にVA菌根菌を共生させて、該VA菌根菌感染植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物をVA菌根菌感染植物に施用することを特徴とするVA菌根菌の増殖方法。

【効果】 本発明の方法によれば、生長促進効果を有しているサイトカイニンとしての作用を有する化合物を用いることにより、VA菌根菌の菌糸の伸長、胞子の形成を行なわしめることができ、その結果、植物を充分に生育させることができ、これに応じてVA菌根菌も旺盛に増殖させることができる。さらに、殺菌剤や殺線虫剤を併用することにより、病原菌、線虫菌等の雑菌の増殖を有效地に防止できるのみならず、VA菌根菌の菌糸の増殖をより一層促進することができる。それ故、胞子密度が高く、かつ、活性に優れたVA菌根菌製剤を安価に製造することが可能である。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 植物根にVA菌根菌を共生させて、該VA菌根菌感染植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物をVA菌根菌感染植物に施用することを特徴とするVA菌根菌の増殖方法。

【請求項2】 植物根にVA菌根菌を共生させて、該VA菌根菌感染植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物と、殺菌剤及び／又は殺線虫剤とをVA菌根菌感染植物に施用することを特徴とするVA菌根菌の増殖方法。

【請求項3】 植物根にVA菌根菌を共生させて、該VA菌根菌感染植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物と、アミノ酸とをVA菌根菌感染植物に施用することを特徴とするVA菌根菌の増殖方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、農業、園芸、土木等の分野で有用なVA菌根菌の増殖方法に関し、詳しくは根にVA菌根菌を共生させた植物に、サイトカイニンとしての作用を有する化合物を施用することにより、VA菌根菌の増殖を阻害することなく植物を旺盛に育て、VA菌根菌を旺盛に増殖させる方法に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】VA菌根菌 (*Vesicular Arbuscular Mycorrhizae*) は種々の作物に感染して、生長を促進させたり、植物の耐病性を向上させることができて知られている (「農業及び園芸」、第62巻、第8号、930~937頁、1987年; 「植物防疫」、第42巻、第5号、259~266頁、1988年)。

【0003】しかしながら、VA菌根菌を人工的に培養することは、非常に難しいとされてきた。その原因の1つは、VA菌根菌を増殖させるために必要な宿主植物の栽培方法に問題があると考えられた。すなわち、VA菌根菌を増殖させるためには、宿主植物を旺盛に生育させる必要があるが、宿主植物を成長させるために必要な肥料を与えると、VA菌根菌の増殖が阻害される、という相反する現象がある。

【0004】従来、VA菌根菌を増殖させる方法としては、培土に化成肥料を入れて植物を育て、その植物根にVA菌根菌を感染させる方法 (特開平2-227068号公報、特開平3-76572号公報) や、産業廃棄物の焼却灰に肥料を加える方法 (特開平3-58715号公報) などが知られている。しかしながら、これらの方法では、いずれも速効性肥料が用いられており、VA菌根菌の生育が阻害されるという問題がある。

【0005】一方、高濃度の化成肥料とVA菌根菌との

2

接触を避けるために、低濃度の液肥を用いる方法 (特開昭55-118390号公報、特開昭60-237987号公報、特開昭62-19028号公報) や、生長促進剤を含む有機質肥料を吸着体に吸着させて用いる方法 (特開昭63-87973号公報) などが考案されているが、肥料成分の調製が煩雑であり、植物生育のために施用回数が多く、手間がかかったり、高価なイオン交換体を用いるという欠点があるばかりか、必ずしもVA菌根菌の増殖を阻害することなく植物を旺盛に育て得るものではなかった。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、これら従来の問題を解決すべく銳意研究を進めた結果、サイトカイニンとしての作用を有する化合物を施用することにより、VA菌根菌の増殖が阻害されずに植物も旺盛に生育するという知見を得、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

【0007】すなわち本発明は、植物根にVA菌根菌を共生させて、該VA菌根菌感染植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物をVA菌根菌感染植物に施用することを特徴とするVA菌根菌の増殖方法を提供するものである。

【0008】VA菌根菌は土壤中に存在する接合菌の一種であり、その菌糸が様々な植物の根について菌根を形成し、両者が共生することが知られている。VA菌根菌としては、種々のものがあり、例えばギガスボラ (*Gigaspora*) 属、グロムス (*Glomus*) 属、スカテロスボラ (*Scutellospora*) 属、アカウロスボラ (*Acaulospora*) 属、スクレロシスティス (*Sclerocystis*) 属、エントロフォスボラ (*Entrophospora*) 属などに属する微生物が挙げられるが、本発明においては、これらの中でも、リン酸、窒素肥料に阻害を受けやすいという点から、特にギガスボラ (*Gigaspora*) 属、グロムス (*Glomus*) 属、スカテロスボラ (*Scutellospora*) 属などに属する微生物、特にギガスボラ (*Gigaspora*) 属に属する微生物に有効である。

【0009】これらVA菌根菌の具体例を示すと、例えばギガスボラ・マルガリタ (*Gigaspora margarita*)、ギガスボラ・アルビダ (*Gigaspora albida*)、スカテロスボラ・グレガリア (*Scutellospora gregaria*)、グロムス・モセアエ (*Glomus mosseae*)、グロムス・イントララディセス (*Glomus intraradices*)、グロムス・カレドニウム (*Glomus caledonium*)、グロムス・ファシキュレータム (*Glomus fasciculatum*)などの他、アカウロスボラ・ラエビス (*Acaulospora laevis*)、エントロフォスボラ・インフレケンス (*Entrophospora infrequens*)、スクレロシスティス・ダッシ (*Sclerocystis dussii*)などを挙げることができる。上記した如く、本発明はこれらの中で

20

30

40

50

も特にギガスボラ・マルガリタ (*Gigaspora margarita*), ギガスボラ・アルビダ (*Gigaspora albida*), スカテロスボラ・グレガリア (*Scutellospora gregaria*), グロムス・モセエ (*Glomus mosseae*), グロムス・イントララディセス (*Glomus intraradices*), グロムス・カレドニウム (*Glomus caledonium*), グロムス・ファシキュレータム (*Glomus fasciculatum*) などの増殖に好適である。

【0010】これらVA菌種菌を集める方法としては、自然界から篩を用いて集める方法（鈴木達彦、VA菌根に関する諸問題5、農業および園芸、第62巻、第3号、p 28~33、1987）や遠心分離による方法（特開昭63-309178号公報）が知られている。また、栄養薄膜培養法（特開昭55-118390号公報）や器官培養した根を使用する方法（特公昭62-49037号公報）等により無菌的にVA菌種菌を増殖させ、胞子を形成させる方法もあるが、収集方法に特に制限はない。なお、グロムス・イントララディセスは、米国NPI社よりNutri-Link（商標名）として販売されている。

【0011】また、VA菌根菌と共生させる植物としては、すなわちVA菌根菌を感染させる植物（VA菌根菌の宿主植物）としては、生長が速く、根がよく張る植物であって、かつ、VA菌根菌が感染しやすい植物であれば特に限定はないが、例えばトウモロコシ、メヒシバ、ムギ、芝草、スーダングラス等のイネ科植物、ナス、トマト、ピーマン、シットウ等のナス科植物、大豆、マングビーン、ピーナツ、アルファルファ、クローバー等の豆科植物、マリーゴールド、ヒマワリ、サイネリア、キク等のキク科植物、イチゴ等のバラ科植物、ネギ、玉ねぎ等のユリ科植物、ベゴニア等のシュウカイドウ科植物などが好ましい。これらの植物は、播種や実生苗として用いる他、播種して育苗後、移植して栽培したり、栄養繁殖したり、挿し芽、挿し木、接木、球根等により増殖、栽培したりして用いられる。

【0012】本発明において、植物にVA菌根菌を感染させる場合に用いる用土（基材ともいう）としては、無機質であり、かつ、水を含むことにより崩壊しにくいものであれば特に制限はなく使用することができるが、土着の雑菌の混入防止と言う観点から、滅菌処理（焼成処理も含む）した基材が好ましい。具体的には焼成アタパルジャイト、焼成モンモリロナイト、焼成珪藻土、ゼオライト、焼成赤玉土、軽石等が特に好ましい。また、異なる基材を複数使用してもよい。

【0013】ここで焼成アタパルジャイト、焼成モンモリロナイト及び焼成珪藻土は、それぞれ粒径が0.5~5mm、好ましくは1~3mmのものを、それぞれ焼成温度200~1300°C、好ましくは300~1000°Cで処理したものが用いられる。また、アルミナ等もバインダーとして使用することができるが、その場合、pHを5.5~7.5に調整

することが好ましい。

【0014】さらに、ゼオライトとしては、粒径が0.5~5mm、好ましくは1~3mmであり、表面が球状で滑らかでなく、粒平面構造を有するものが好ましい。また、焼成赤玉土としては、粒径が0.5~5mm、好ましくは1~3mmのものを焼成温度200~1300°C、好ましくは200~1000°Cで処理したものが用いられる。

【0015】VA菌根菌の宿主植物への感染方法について述べると、VA菌根菌の施用時期としては、宿主植物の発根前後のいずれであってもよいが、特に種播きや挿し芽の前処理時、種播きや挿し芽と同時、或いは苗の移植時などが好ましい。また、施用方法としては基材と混合したり、種子や芽の下層に層状に施用したり、或いは定植時の植え穴の中に施用したりすることが好ましい。さらに、VA菌根菌の施用量は特に制限はないが、通常、1植物体当たり、1~10,000個程度である。

【0016】VA菌根菌の宿主植物への感染や宿主植物の栽培は、既知の方法により行なえばよく、例えば温度は10~50°C、好ましくは15~35°C、土壤のpHは3~9.5、好ましくは4~7.5の条件で行なわれる。

【0017】このようにして宿主植物を栽培すると、宿主植物の生育に伴い、VA菌根菌の感染が成立する。このようにしてVA菌根菌の感染した植物を栽培し、該植物の根を用いてVA菌根菌を増殖させる。すなわち、植物根にVA菌根菌を共生させて、該植物を栽培することにより、VA菌根菌を増殖させる。

【0018】本発明の方法は、このようにしてVA菌根菌の感染した植物を栽培し、VA菌根菌を増殖させるにあたり、サイトカイニンとしての作用を有する化合物を、VA菌根菌の感染した植物に施用することを特徴とするものである。ここでサイトカイニンは、植物の個々の細胞を増大させ、結果として植物全体を旺盛に生育させる働きを有する一種の植物ホルモンであることが知られているが、これまでVA菌根菌の増殖に用いた例は全く知られていない。

【0019】ここでサイトカイニンとしての作用を有する化合物としては、例えば天然サイトカイニンとして、未熟トウモロコシや担子菌などから得られるゼアチニンやタバコのカルスより分離されたカイネチンの他に、合成サイトカイニンとして、ベンジルアデニン、ジフェニルウレアなどである。ここで使用されるサイトカイニンは、通常、水溶液にして、10ppmから0.001ppmの範囲で植物に一般的に使われるが、濃度は植物の種類や生育の時期により異なり、好ましくは1ppmから0.01ppmの範囲で使用すればよい。

【0020】上記サイトカイニンとしての作用を有する化合物は、植物に直接散布したり、植物と基材の両方に散布することにより、施用すればよい。施用回数や施用量は特に制限はないが、通常はVA菌根菌の感染した植

物を栽培する過程で、月に一回程度、1植物体あたり1m¹～1000m¹、好ましくは10m¹～300m¹を施用すればよい。

【0021】さらに、本発明では、必要に応じて殺菌剤及び／又は殺線虫剤を併用することができ、この場合、病原菌、線虫菌等の雑菌の増殖を有効に防止すると共に、より一層VA菌根菌を旺盛に繁殖させることができる。このような薬剤として具体的には、例えば、殺菌剤としては、①キャプタン(captan) (別名オーソサイド)、②ペノミル(別名ベンレート)、③リドミル(別名メタラキシル)、④クロロネブ(別名デモサン)、⑤エタゾール(別名パンソイル)、⑥チアベンダゾール、⑦オキザミル(別名バイデート)などが挙げられる。また、殺線虫剤としては、⑧1,3-ジクロロプロベン(別名テロン, DDD)などが挙げられる。

【0022】このような薬剤の施用量は、上記①の薬剤の場合は0.1～10g/m²、好ましくは0.5～2g/m²であり、②の薬剤の場合は0.01～10g/m²、好ましくは0.05～4g/m²である。また、③の薬剤の場合は0.05～10g/m²、好ましくは0.1～2g/m²であり、④の薬剤の場合は0.005～12g/m²、好ましくは0.01～3g/m²である。次に、⑤の薬剤の場合は0.005～6g/m²、好ましくは0.01～1g/m²であり、⑥の薬剤の場合は0.1～10g/m²、好ましくは0.2～3g/m²である。さらに、⑦の薬剤の場合は0.5～70g/m²、好ましくは1～50g/m²であり、⑧の薬剤の場合は0.1～40g/m²、好ましくは0.1～10g/m²である。上記薬剤は、単独で用いてもよいし、或いは2種以上を組み合わせて用いても良い。このように種々の薬剤を組み合わせて用いることにより、フザリウム、ピシウム、リゾクトニア、フィトフィトラ等の土壌病原菌や、ミスト線虫や根こぶ線虫等の線虫の混入を防ぐことができる。

【0023】薬剤の処理は、VA菌根菌が植物体に感染した後に行なう。通常、VA菌根菌を植物に感染させるために施用してから、7日間以上経過後、好ましくは10日間以上経過後、より好ましくは14日間以上経過後であって、胞子を形成する前までの間に薬剤の処理が行なわれる。薬剤を2種以上組み合わせて用いる場合には、適当間隔をおいて複数回に分けて施用(具体的には散布)すればよい。

【0024】上記薬剤の散布方法については、薬剤の種類により濃度は異なるが、通常行なわれる態様でよく、例えばエタゾールの場合には、0.01～3.0mg/リットル、好ましくは0.05～1.5mg/リットルの濃度の水溶液として、植物の苗1本あたり、50～500m¹程度、苗近傍に散布すればよい。また、植物の栽培にあたっては、必要に応じて、灌水したり、栄養分を供給することができる。

【0025】さらに、本発明においては、必要に応じてアミノ酸を併用することができ、より一層VA菌根菌を

繁殖させることができる。このようなアミノ酸として具体的には、シスチン、メチオニン、グリシン、リジン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、イソロイシン、アラニン、スレオニン、バリン、ヒスチジン、ロイシンなどが挙げられ、通常、水溶液にして用いられる。

【0026】このようなアミノ酸水溶液を、1ppmから500ppm、好ましくは10ppmから100ppmの濃度となるように調製して用いる。なお、アミノ酸は、単独で用いてもよいし、或いは2種以上を組み合わせて用いてもよい。また、処理時期は、サイトカイニンの施用と同時期、すなわちVA菌根菌の感染植物を栽培する過程で、月に1回程度、植物葉面若しくは植物葉面と基材の両方に、1植物体あたり、1m¹～1000m¹、好ましくは10m¹～300m¹散布することにより施用すればよい。

【0027】宿主植物の生育に伴い、VA菌根菌も旺盛に繁殖する。通常、2～5ヶ月程度経過して、宿主植物が充分に生育したところで、水、栄養分等の供給を絶ち、暫く放置すると、VA菌根菌は胞子を形成する。そこで、形成したVA菌根菌胞子の付着した基材を回収し、VA菌根菌製剤として用いればよい。また、高密度に増えたVA菌根菌の胞子を回収し、別の担体と混合してVA菌根菌接種物を効率良く作ることが可能となる。このようにして得られたVA菌根菌製剤或いは分離胞子を含む接種物は、VA菌根菌が感染しうる植物に施用され、種々の植物の栽培に利用される。

【0028】

【実施例】次に、本発明を実施例により詳しく説明する。

30 実施例1, 2, 3及び比較例1

臭化メチルで殺菌した赤玉土(粒径3mm以下)を5号プラスチック鉢(1.5リットル容)に5分の4程度充填した。その上にVA菌根菌としてギガスボラ・マルガリタ(Gigaspora margarita)(本菌は、工業技術院微生物工業技術研究所において受託を拒否された。)の胞子を80個接種した後、デントコーンの種子を播き、その上に前記赤玉土を充填した。このようにセットした鉢を12個用意し、25～30℃のガラス温室内で4週間栽培した。一方、サイトカイニンとしては、トランス

40 ゼアチン100mgを少量の0.1N NaOHに溶解させた後、約200m¹の脱塩水を添加し、pHを6.5に0.05N HClで調整したゼアチン水溶液を1リットルに調製したものを原液として使用した。先に用意し、4週間栽培を終えた3鉢に、上記ゼアチン水溶液原液を200倍に希釈したもの(試薬A)を、各鉢100m¹ずつ、植物の葉面から散布した(A区)(実施例1)。また、別の3鉢には、試薬Aにエタゾールを0.1ppmの濃度に調製した水溶液(試薬B)を、各鉢100m¹ずつ、植物の葉面から散布した(B区)(実施例2)。さらに、別の3鉢には、試薬Aにアミノ酸とし

7

テリジンを0.1ppm、グリシンを0.1ppm、ロイシンを0.1ppm、シスチンを0.1ppm、メチオニンを0.1ppmになるように調製した溶液（試薬C）を、同様に各鉢100mlずつ、植物の葉面から散布した（C区）（実施例3）。残る3鉢には、脱塩水のみを100mlずつ散布した（比較例1）。

【0029】上記処理1週間後より、下記のように調製した液肥を、週1回、各鉢に300mlずつ散布しながら継続してさらに3ヶ月栽培した。すなわち液肥としては、次の①微量元素栄養素液と②の栄養液肥とを用い、①の微量元素栄養素液を150倍に希釈し、この希釈液1リットル当たり、②の栄養液肥を10g混合し、さらに硫酸マグネシウム・7水塩を0.25g加えて調製した。

①微量元素栄養素液の組成

Fe-EDTA	0.12 g
H ₂ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.18 g
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.22 g
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.08 g
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.027 g

第1表
* 20

* CoSO ₄ · 6H ₂ O	0.053 g
CaCl ₂	1.0 g
Al ₂ (SO ₄) ₂	0.10 g
KI	0.10 g
KBr	0.10 g
水	10リットル

②栄養液肥の組成

普通液肥（N:P:K=15:6:6）

【0030】この間1ヶ月毎に、上記と同様に試薬A 100mlをA区の3鉢それぞれに、試薬B 100mlをB区の3鉢それぞれに、そして試薬C 100mlをC区の3鉢それぞれに散布した。残る3鉢それぞれには、脱塩水のみ100mlを試薬の代わりに散布した。栽培開始後4ヶ月を経た時点で、植物への灌水や各試薬の散布を一切止め、1ヶ月間そのまま放置した。その後、赤玉土を回収し、ウェットシーピング法により、VA菌根菌〔ギガスボラ・マルガリタ（*Gigaspora margarita*）〕の胞子を分離し、胞子数を測定した。各区3ポットの平均値を第1表に示した。

20 【0031】
【表1】

	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
VA菌根菌	ギガスボラ・マルガリタ			
	サイトカイニン (試薬A)	サイトカイニン +エタゾール (試薬B)	サイトカイニン +アミノ酸 (試薬C)	脱塩水
胞子数 個/ポット	10,891	11,523	12,078	6,933

【0032】実施例4、5及び比較例2

実施例1、3及び比較例1において使用したVA菌根菌〔ギガスボラ・マルガリタ（*Gigaspora margarita*）〕の代わりに、VA菌根菌〔ギガスボラ・アルビダ（*Gigaspora albida*）〕を用いたこと以外は、実施例1、3及び比較例1と同様に行なった。その結果、赤玉土を回収し、ウェットシーピング法により分離し、回収された胞子数の各区3ポットの平均値を第2表に示した。

【0033】実施例6及び比較例3

実施例2において使用したVA菌根菌〔ギガスボラ・マルガリタ（*Gigaspora margarita*）〕の代わりに、VA菌根菌〔ギガスボラ・アルビダ（*Gigaspora albida*）〕を用い、かつ、ゼアチン水溶液（試薬A）にエタ

※ゾール0.1ppmの濃度に混合した溶液の代わりにDCIP〔ビス（2-クロロメチルエチル）エーテル〕乳剤（（株）アグロス社、DCIP 80%含有）を試薬Aで1000倍に希釈した溶液（試薬D）を用いたこと以外は、実施例2と同様に行なった（実施例6）。また、DCIP乳剤を試薬Aの代わりに脱塩水を使用して、1000倍に希釈した溶液（試薬E）を用いたこと以外は、実施例6と同様に行なった（比較例3）。その結果、赤玉土を回収し、ウェットシーピング法により分離し、回収された胞子数の各区3ポットの平均値を第2表に示した。

20 【0034】
【表2】

第2表

	実施例4	実施例5	実施例6	比較例2	比較例3
VA 菌根菌	ギガスボラ・アルビダ				
	サイト カイニン (試薬A)	サイトカイニン +アミノ酸 (試薬C)	サイトカイニン +DCIP (試薬D)	脱塩水	DCIP (試薬E)
胞子数 個/ポート	9,665	11,367	10,891	6,425	8,574

【0035】

【発明の効果】本発明の方法によれば、生長促進効果を有しているサイトカイニンとしての作用を有する化合物を用いることにより、VA菌根菌の菌糸の伸長、胞子の形成を行なわしめることができ、その結果、胞子密度が高く、かつ、活性に優れたVA菌根菌製剤を安価に製造*

*することを可能にする。また、高密度に増えたVA菌根菌の胞子を回収し、物の担体と混合して、VA菌根菌接種物を効率良く、安価に作ることが可能となる。さらに、殺菌剤や殺線虫剤を併用することにより、病原菌、線虫等の雑菌や害虫の増殖を防止することができる。